

REF 12079

 **siehe**

Verwendungszweck:

Färben von Gewebeproben

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0



Verwendungszweck

Die Azanfärbung (nach Heidenhain) ist eine Mehrfach- oder Trichrom-Färbung. Die Bezeichnung „AZAN“ ist ein Akronym der Farbstoffe „Azokarmin“ und „Anilinblau“ und wurde von Martin Heidenhain zur Differenzierung von extrazellulären Bindegewebsfasern, Geweben und Zellbestandteilen eingeführt. Bis heute ist die AZAN-Färbung nach Heidenhain eine der gebräuchlichen Trichrom-Färbungen für diagnostische und wissenschaftliche Fragestellungen. Das Färbekit AZAN nach Heidenhain ist ausschließlich für die professionelle Anwendung im histologischen Labor vorgesehen.

Prinzip

Azokarmin ist ein roter Farbstoff. Er dient vorwiegend zur Kernfärbung. Er ist ein negativ geladener Farbstoff, der über elektrostatische Adsorption alle positiven Strukturen im Gewebe, wie Erythrozyten, Gliafibrillen oder das Zytoplasma, rot färbt. Zum sicheren Ausschluß der Kernentfärbung wird die Differenzierung mit essigsaurem Alkohol abgebrochen. Durch die Beize Phosphorwolframsäure wird Azokarmin aus dem Gewebe verdrängt und so die Strukturen weiter entfärbt. Anilinblau dient zur Gegenfärbung. Die Anfärbung des Bindegewebes erfolgt nach dem Dispersitätsprinzip: Anilinblau ist ein grobdisperser Farbstoff, der in der gewählten Färbezeit nur lockere Strukturen, wie retikuläre oder kollagene Fasern, blau anfärbt. Das als Plasmafarbstoff oder zur Gegenfärbung eingesetzte Orange G kann durch wässern differenziert werden. Der feindisperse Farbstoff färbt innerhalb der gewählten Färbezeit alle Strukturen an (Prinzip der Dispersität), wird jedoch von Anilinblau und Azokarmin überlagert. Die Einhaltung der Färbezeiten ist wesentlich, um optimale Ergebnisse zu erzielen.

Reagenz

Wirksame Bestandteile

1000 ml Anilinalkohol (CAS-Nr.:)
1000 ml Essigsaurer Alkohol 1 %ig (CAS-Nr.:)
1000 ml Azokarmin (CAS-Nr.:)
1000 ml Phosphorwolframsäure 5 %ig (CAS-Nr.:)
1000 ml Anilinblau - Orange G - Gebrauchslösung (CAS-Nr.:)
1000 ml Anilinalkohol (CAS-Nr.:)

Besondere Hinweise

Haltbarkeit: bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Entsorgung: Die Lösung ist nach dem angegebenen Verfallsdatum als chemischer Sondermüll zu behandeln und unter Einhaltung der lokalen Vorschriften sachgemäß zu entsorgen. Weitere Hinweise sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Leistungsmerkmale

Ergebnisse Lichtmikroskopie:

Zellkerne: rot
Zytoplasma: rötlich
Bindegewebefasern:
- kollagene blau
- retikuläre blau
- elastische ungefärbt oder rötlich
Muskelgewebe: rot-orange

Vorbereitung und Vorsichtsmaßnahmen

Prüfung:

Wir empfehlen vor der diagnostischen Verwendung die Lösungen über einen Referenzvergleich zu prüfen. Dies kann über das Mitführen einer bekannten Referenzprobe erfolgen.

Vorsichtsmaßnahmen:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten die üblichen Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Es sollte nur eingewiesenes Fachpersonal mit den Laborreagenzien arbeiten. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen zu diesem Produkt sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Probennahme:

Die Entnahme von Proben erfolgt nach den üblichen Vorgehensweisen. Hierbei ist zu gewährleisten, dass frische Proben unmittelbar nach Probennahme ordnungsgemäß fixiert werden. Am besten gelingt die Färbung nach Fixierung in sublimathaltigen Flüssigkeiten. Chromhaltige Fixiergemische vermeiden! Schnittdicke der Proben sollte unter 10µm liegen.

Hinweise zur Durchführung:

Die Färbung ist von Fachpersonal durchzuführen, und es ist zu gewährleisten, dass alle Proben nach dem Stand der Technik behandelt werden. Die visuelle Auswertung sollte nur von geeigneten und geschultem Personal durchgeführt werden. Diagnosen dürfen nur von autorisierten Personen erstellt werden. Die Farbintensität und der Differenzierungsgrad werden von verschiedenen Faktoren, wie Schnittdicke, Art des Gewebes, Fixierung und Färbezeiten beeinflusst. Wir empfehlen daher das Ergebnis mit anderen Methoden/Untersuchungen zu bestätigen.

Empfehlung:

Eventuell auftretende Niederschläge oder Ausfällungen bei häufiger Anwendung können durch Filtration über übliche Faltenfilter beseitigt werden.

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien und Materialien

Alkoholreihe in ver. Konzentrationen, siehe Verfahren
Ethanol 96% vergällt 1000ml Artikelnr.: 11470.01000
Xylol 1000ml Artikelnr.: 11070.01000

entionisiertes Wasser

gedruckt: 28.08.2019

letzte Aktualisierung:

REF 12079

siehe

Verwendungszweck:

Färben von Gewebeproben

Gefahrenhinweise:

BPZ_Version: 1.0



Verfahren

Die AZAN-Heidenheinfärbung kann entweder manuell (in Glasfärbeküvetten, Hellendahl-Färbetrogen, etc.) oder in einem Färbeautomaten durchgeführt werden. Grundsätzlich ist zu beachten, dass – je größer die verwendeten Färbeträge und je größer damit das Volumen der jeweiligen Reagenzien ist – die Färbezeiten reduziert werden müssen. Die hier angegebenen Zeiten gelten für Reagenzienvolumen von 250 - 500 ml.

Abhängig von den zu färbenden Schnitten, sind abweichende Färbezeiten sinnvoll. Nach einzelnen Schritten sind daher mikroskopische Kontrollen notwendig.

Ein Beispiel für ein Färbeprotokoll sieht wie folgt aus:

- | | | |
|------|---|--------|
| (1) | Entparaffinieren mit Xylol [-Ersatzstoff] | |
| (2) | Absteigende Alkoholreihe: 96 - 80 - 70 | |
| (3) | Anilinalkohol | 5 min |
| (4) | Aqua dest, kurz abspülen | 10 sec |
| (5) | Azokarmin, erwärmt auf 60°C | 45 min |
| (6) | Aqua dest; kurz abspülen | 10 sec |
| (7) | Anilinalkohol | 5 min |
| (8) | Essigsaurer Alkohol 1%ig | 1 min |
| (9) | Aqua dest; kurz abspülen | 10 sec |
| (10) | Phosphorwolframsäure 5%ig | 1-3 h |
| (11) | Aqua dest; kurz abspülen | 10 sec |
| (12) | Anilinblau-Orange G | 1 h |
| (13) | Aqua dest; kurz abspülen | 10 sec |
| (14) | Aufsteigende Alkoholreihe 96 - 96 - 100 | |
| (15) | Xylol [-Ersatzstoff] - Eindecken | |

Mikroskopische Kontrollen sollten bei Schritt (7) und bei Schritt (10) erfolgen und die Zeiten ggf. zu verlängern oder zu verkürzen. Jedes Labor sollte eine eigene Arbeitsanweisung für ein Färbeprotokoll erstellen, die sich an den Gegebenheiten des Labor und den jeweils zu bearbeitenden Fragestellungen des Anwenders orientieren.

Literaturangaben

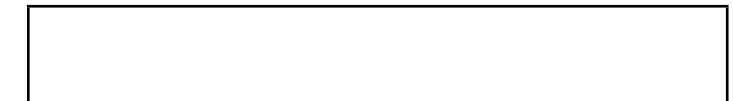
Literatur zu diesem Verfahren

Heidenhain, M. (1905): XXXXXXXXXXXX, Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik, v. 22, pp. 339

Allgemeine Literatur zu diesem und ähnlichen Verfahren

1. BANCROFT, J. D. & GAMBLE, M. (2002): Theory and practice of histological techniques. 5th Edition. Churchill Livingstone (Edinburg, London, New York).
2. BÖCK, P. (1989): Romeis: Mikroskopische Technik. – 17. Auflage, Urban & Schwarzenberg (München, Wien, Baltimore).
3. BURCK, H.-C. (1988): Histologische Technik – Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis. – 6. Auflage, Thieme Verlag (Stuttgart, New York).
4. HOROBIN, R. W. & KIERNAN, J. A. (2002): CONN's Biological Stains – A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine.

Ergebnisbeispiel



gedruckt: 28.08.2019

letzte Aktualisierung: